

“Listeria monocytogenes: un problema para la salud pública y la industria alimentaria”

Año 2014

Equipo: Br. Lucia Noboa, Br. Estefania Baricevich, Br. Florencia Feldman, Br. Alejandra Garretano.
Tutor: Dra. M^a Ines Mota Profesor adjunto del Departamento de Bacteriología y Virología UDELAR



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



Índice de contenidos

Resumen	Pág.3
Fundamentación	Pág.3
Introducción: Marco teórico	Pág.4
Importancia del tema	Pág.4
El agente: <i>Listeria monocytogenes</i>	Pág.5
Biología	Pág.5
Reservorio	Pág.5
Transmisión al hombre	Pág.6
Listeriosis	Pág. 6
Patogenia	Pág.7
Factores predisponentes	Pág.7
Manifestaciones clínicas	Pág.8
Métodos de identificación y subtipificación del agente	Pág.11
Dificultades en el estudio de un brote	Pág.13
Objetivos	Pág.15
Objetivo general	Pág.15
Objetivo específicos	Pág.15
Metodología	Pág.15
Resultados	Pág.16
Discusión	Pág.20
Conclusiones	Pág.21
Referencias	Pág.22

Resumen

La listeriosis es una enfermedad transmitida por alimentos con alta letalidad (20%) que puede presentarse como casos esporádicos o como brotes. Las variadas presentaciones clínicas de dicha enfermedad (gastroenteritis, meningitis, complicaciones del embarazo como aborto, parto pretérmino y óbito, sepsis neonatal, etc.) y el extenso período de incubación hacen que el reconocimiento de un brote sea un reto para el sistema de salud. El objetivo de nuestro estudio fue analizar las características de los brotes de *Listeria monocytogenes* publicados en los últimos diez años. La metodología de estudio fue una revisión sistemática de artículos que describieran brotes publicados en los últimos diez años a nivel mundial. La búsqueda arrojó 294 artículos de los que 20 cumplieron con los criterios de inclusión. Los resultados mostraron que la tasa de letalidad fue de 19,3%, la población más afectada fueron los adultos mayores (más de 65 años). La manifestación más frecuente en las embarazadas fue la fiebre y la mitad de los embarazos presentaron complicaciones (óbito, aborto o parto pretérmino). El serotipo más frecuente fue el 1/2a. Los alimentos responsables de la transmisión de *Listeria monocytogenes* más frecuente fueron los quesos blandos. El 42% de los brotes fueron identificados gracias a un sistema de notificación y el 32% por la existencia de una red de subtipificación molecular. Concluimos que es de suma importancia en el reconocimiento de los brotes una red que incluya un sistema de vigilancia epidemiológica y una red de laboratorios clínicos, de salud pública, de control de alimentos y de subtipificación molecular trabajando en conjunto.

Fundamentación:

La listeriosis, enfermedad grave causada por *Listeria monocytogenes*, patógeno de transmisión alimentaria, ha cobrado gran importancia en las últimas décadas por el aumento de su incidencia vinculada a la introducción de los alimentos procesados y listos para consumir. Si bien conocemos datos de incidencia y mortalidad de casos esporádicos y de brotes vinculados a alimentos contaminados en países desarrollados (principalmente EEUU), desconocemos cual es la situación epidemiológica en nuestro país. Esto último es relevante ya que la

listeriosis tiene alta letalidad especialmente en determinadas poblaciones de riesgo. La listeriosis puede presentarse como casos esporádicos o como brote, vinculado a un alimento específico.

En nuestro país los casos de listeriosis son de denuncia obligatoria por integrar el grupo de las enfermedades transmitidas por alimentos o en el caso de las meningitis aunque no por caso de listeriosis, por lo cual no disponemos de datos nacionales sobre su incidencia (no hay datos discriminados para este agente); tampoco hay reporte de brotes de listeriosis.

Nuestra pregunta de investigación es cómo se realiza en otros países el reconocimiento y estudio de un brote de listeriosis, y cuáles son las dificultades que tenemos en nuestro país para lograr captarlos y estudiarlos adecuadamente teniendo presente que dicha enfermedad tiene un alto índice de letalidad.

Este trabajo tiene el fin de, en un futuro, poder aproximarse a datos fidedignos para estimar la situación epidemiológica del Uruguay con respecto a la listeriosis, y que por lo tanto nos permite identificar los brotes a tiempo, diagnosticar los casos de enfermedad por *Listeria monocytogenes* e implementar oportunamente medidas preventivas y/o curativas adecuadas de orden nacional para disminuir parámetros epidemiológicos como incidencia y letalidad de dicho patógeno.

Nuestro país cuenta con un laboratorio de subtipificación molecular de *Listeria monocytogenes*, que actualmente ha estudiado 27 casos de listeriosis humana realizando a todos los aislamientos que recibe confirmación de especie bacteriana por bioquímica y biología molecular, serotipo por aglutinación y múltiple PCR y electroforesis en campo pulsado (PFGE).

Introducción: Marco teórico

Importancia del tema

A pesar de todos los avances en el conocimiento de la listeriosis, esta sigue siendo un importante problema de salud pública. En primer lugar porque los brotes epidémicos son difíciles de investigar, debido al largo periodo de incubación de la listeriosis invasiva, que dificulta el estudio de los alimentos consumidos por las personas afectadas, y a que los casos de listeriosis suelen ser sujetos

inmunocomprometidos, lo que dificulta la selección de controles en los estudios de casos y controles. En segundo lugar, porque *Listeria monocytogenes* presenta una serie de características que la convierten en un importante peligro de toxiinfección alimentaria, debido a su gran ubicuidad en el medio ambiente que favorece su diseminación en las instalaciones que elaboran alimentos si las condiciones de higiene y manipulación no son correctas; y a su gran capacidad de resistencia al frío, calor, acidez y salinidad, que favorecen su desarrollo en los procesos de conservación y almacenamiento de los alimentos. En tercer lugar, porque determinados grupos de población especialmente susceptibles a la listeriosis, como las personas mayores y las inmunocomprometidas, experimentan actualmente un aumento continuado, en cifras absolutas y relativas, en el mundo occidental. El cuarto motivo, es su elevada letalidad de hasta el 30% en los grupos de riesgo (neonatos, mujeres embarazadas, ancianos e inmunodeprimidos).(1)

El agente: *Listeria monocytogenes*

Biología

Listeria monocytogenes (Lm) es un cocobacilo gram positivo aerobio-anaerobio facultativo, no esporulado, catalasa positivo, oxidasa negativo. Lm tiene la capacidad de crecer en agar sangre produciendo β -hemólisis o hemólisis completa. La bacteria posee de uno a cinco flagelos que cuando se siembra en medios semisólidos en tubo y se incuba a 25 °C exhiben una motilidad característica en aspecto de “sombrija” (2). El crecimiento óptimo de la bacteria ocurre entre 30 y 37 °C. Sin embargo, Lm crece mejor que otras bacterias a temperaturas de entre 4 y 10 °C, de esta forma puede ser separada de otras bacterias incubándola en ese rango de temperatura (técnica de enriquecimiento en frío). Cuando se observa el crecimiento en agar sangre y se utiliza una iluminación transmitida en un ángulo de 45 grados (iluminación de Henry), las colonias de Lm aparecen color azul-grisáceas mientras que otras colonias bacterianas aparecen amarillas o naranjas.(3)

Reservorio

Listeria monocytogenes tiene una gran distribución en la naturaleza, pudiendo ser encontrada en la tierra y restos vegetales en descomposición. Los rumiantes tienen un rol clave en la mantención de Lm en el ambiente rural a través del ciclo continuo fecal-oral.

Lm es un microorganismo ambiental que tiene la facultad de adherirse a las superficies, formando biopelículas (*biofilm*) lo que en el ambiente de las fábricas de producción de alimentos, permite a esta bacteria contaminar los mismos en sus diferentes etapas. Los alimentos mayormente implicados en los brotes de listeriosis son: productos lácteos como leche cruda, manteca elaborada con leche pasteurizada, quesos elaborados con leche sin pasteurizar como el queso suave, queso fresco, queso azul de molde y queso tipo Brie. Productos no lácteos como carne, pescado, embutidos, patés, productos congelados listos para consumo, vegetales crudos.(4,5)

Transmisión al hombre

Listeria monocytogenes puede ser transmitida mediante el contacto de humanos con animales infectados(5), habiendo sido documentados casos de infecciones cutáneas localizadas en veterinarios y agricultores luego del contacto directo con terneros abortados y aves de corral infectadas.(3) Sin embargo, la mayor transmisión a humanos es llevada a cabo por alimentos contaminados, y madre a hijo intraútero o durante el parto.(5) También han sido documentados casos de infección cruzada en las salas de neonatología. Fuera de las excepciones nombradas no se han documentado casos de transmisión de humano a humano.(3)

Listeriosis

Se denomina listeriosis a la enfermedad causada por *Listeria monocytogenes*, pudiéndose presentar como casos esporádicos o brotes. Definimos como brote, a un aumento en el número de casos de una enfermedad por encima de lo esperado o trastorno que se produce en una población concreta, en una localización geográfica y período de tiempo bien definidos. Lm se considera un patógeno oportunista con tasas de letalidad del 20-30%. De los 13 serotipos principales, se

identifica al 4b, 1/2b y 1/2a, como responsables de la mayoría de los casos de listeriosis humana en Estados Unidos.(3)

El período de incubación para la enfermedad invasiva, varía entre 1 y 67 días con una media de 8 días.(3) Estudios sugieren que el período de incubación en general es más corto que el asumido y varía de acuerdo a las diferentes presentaciones clínicas. El período de incubación más corto se observa en las gastroenterocolitis, siendo este de un día, siendo aún más corto que el de otras bacterias comunes como *Salmonella*. Se observó también, un período de incubación corto para los casos de bacteriemia con una media de 2 días, siendo más largo en los casos de afección del sistema nervioso central, con una media de 9 días. Los casos asociados a embarazos tuvieron un período de incubación con una media de 27,5 días.(6)

Patogenia

Luego de ingerida y una vez en el intestino, Lm mediante la interacción de la proteína internalina de superficie celular, con E-cadherina, un receptor en las células epiteliales y macrófagos, provoca la inducción de fagocitosis. Una vez fagocitado, la listeriolisina O, el principal factor de virulencia, junto con las fosfolipasas, le permite a Lm escapar de los fagosomas y evitar la muerte intracelular. Al encontrarse libre en el citoplasma, se pueden multiplicar y mediante la inducción de la polimerización de actina, se pueden propulsar hacia la membrana celular. Una vez contra la membrana de la célula huésped, emiten pseudópodo que pueden ser ingeridos por células adyacentes. La proteína de la superficie bacteriana Act A es necesaria para la inducción del ensamblaje de filamentos de actina y la propagación de célula a célula constituyendo también un importante factor de virulencia. El hecho de pasar directamente de célula a célula, le permite a Lm no exponerse al sistema inmune.(3)

La listeriosis invasiva se produce cuando las bacterias que causan la infección atraviesan la barrera intestinal y alcanza sistemas y órganos blanco como el sistema nervioso central y el útero en la mujer embarazada, ocasionando meningoencefalitis, sepsis, etc. En la mujer embarazada se disemina por vía

sanguínea y atraviesa la barrera transplacentaria, lo que puede dar como resultado la infección del feto o del recién nacido.(3)

Factores predisponentes

Se desconoce el inoculo vía oral necesario para causar la infección clínicamente manifiesta, pero se identifica a la alcalinización del estómago como promotor de la infección. Ésta puede ser causada por antiácidos, bloqueadores H₂, inhibidores de la bomba de protones, la cirugía de úlcera o la aclorhidria asociada con la edad avanzada. (3)

La sobrecarga de hierro en el organismo como por ejemplo en la hemocromatosis o asociada a la diálisis se asocia a una mayor susceptibilidad a la infección, y se observa in vitro que el hierro aumenta el crecimiento del microorganismo. (3)

La inmunodepresión ocasionada por el uso de glucocorticoides, así como la causada por inhibidores de TNF- α , se asocian a una mayor susceptibilidad a la infección por Lm. Se observa una incidencia de listeriosis en los pacientes con VIH estadio SIDA entre 100 a 1000 veces mayor a la de una población de la misma edad, y se observa en forma más frecuente en pacientes con enfermedad avanzada cuyo recuento de linfocitos CD4 es inferior a 100/mm³. Igualmente muchos de los casos seguramente son evitados por la profilaxis contra *Pneumocystis jirovecii* realizada con trimetoprim-sulfametoxazol. Otros grupos de riesgo asociados a inmunodepresión son los individuos con cáncer, transplantados, diabéticos, y con enfermedad renal.(3)(7)

En mujeres embarazadas se ve un aumento del riesgo 17 veces mayor de desarrollar bacteriemia por Lm, lo cual se encuentra asociado al estado de relativa supresión de la inmunidad celular que se produce durante la gestación en el 2º y 3º trimestre. Además se produce desarrollo del patógeno en lugares de difícil acceso para la inmunidad, como la placenta. El mecanismo de transmisión célula-célula de dicha bacteria facilita la transmisión materno-fetal. Esto junto al hecho de que los fetos y los recién nacidos no tienen un sistema inmunitario totalmente desarrollado como para combatir las bacterias, los convierte en un grupo de riesgo. (3)(7)

El adulto mayor, en general a partir de los 60-65 años, suele presentar el sistema inmunitario debilitado. Los adultos mayores a menudo tienen afecciones crónicas, presentan mala nutrición, o trastornos de la circulación que los hacen más susceptibles a la enfermedad.(7)

Manifestaciones clínicas

- Listeriosis gastrointestinal no invasiva

Es la forma clínica más habitual. Es una causa infrecuente de diarrea febril esporádica. Aproximadamente luego de 24 horas (rango entre 6 horas y 10 días) de ingerido el alimento contaminado los pacientes se convierten en portadores asintomáticos o sufren deposiciones acuosas, náuseas, vómitos, cefalea, artromialgias y fiebre. Estos síntomas suelen durar un par de días, a no ser que el individuo conforme alguno de los grupos de riesgo. (4)

- Listeriosis invasiva
 - Enfermedad gestacional y neonatal

En las gestantes la forma de presentación más frecuente es la fiebre sin foco aparente y con pocos síntomas acompañantes. En general la mayoría experimenta, entre 2 y 6 semanas después de la infección, una bacteriemia que suele cursar con un síndrome pseudogripal leve, con fiebre, escalofríos, artromialgias, lumbalgia, tos, cefalea, mareo o síntomas gastrointestinales. El cuadro suele ser de resolución espontánea a no ser que ocasione amnionitis. La meningitis es muy rara. La gravedad de la listeriosis materna radica sobre todo en el tercer trimestre ya que puede desencadenar muerte fetal intraútero, prematuridad, sepsis y muerte neonatal.(4)

Con mayor frecuencia, la infección neonatal tiene dos formas de presentación: por un lado se puede presentar como un síndrome séptico de aparición temprana que asocia prematuridad, en la cual la infección es probablemente adquirida en el útero. Por otro lado puede presentarse como una meningitis de aparición tardía, aproximadamente 2 semanas después del parto, en recién nacidos de término. En este caso lo más probable es la infección a través del canal de parto, aunque se

han visto casos producidos luego de cesáreas, lo cual sugiere una posible transmisión nosocomial. (3)

- Bacteriemia

Una de las formas clínicas más frecuente en inmunodeprimidos es la bacteriemia sin foco identificable. Las manifestaciones clínicas son similares a las observadas en bacteriemias debidas a otras causas y típicamente incluyen fiebre y malestar general. También se puede producir una enfermedad prodrómica con diarrea y náuseas.(3)

- Infección del sistema nervioso central

Lm tiene tropismo por el cerebro, el tronco cerebral, así como por las meninges.(3) Es una de las tres causas principales de meningitis neonatal. En los adultos mayores de 50 años sólo es superado por el neumococo como causa de meningitis bacteriana y es la causa más común de meningitis bacteriana en pacientes con linfomas, los transplantados y los que reciben inmunosupresión con corticosteroides.(4) Puede ocasionar desde un cuadro febril con cambios cognitivos leves, hasta el coma y la muerte. La presentación suele ser atípica e insidiosa comparado con otras meningitis bacterianas. Puede complicarse con encefalitis, causando alteraciones de pares craneanos, temblor, ataxia, hemiplejía, sordera o convulsiones.(4)

Es muy característica, pero no frecuente, la romboencefalitis, la cual afecta de forma especial al tronco del encéfalo. Luego de una primera fase caracterizada por fiebre, náuseas, vómitos y cefalea, los pacientes sufren parálisis de pares craneales, hemiparesia y afectación cerebelosa.(4)

La encefalitis se produce tras la implantación por vía hematógica, y a menudo no se acompaña de meningitis.(4)

El absceso cerebral representa aproximadamente el 10% de las infecciones por Lm del sistema nervioso central (SNC). La mortalidad es alta, y los sobrevivientes suelen tener secuelas graves.(3)

- Endocarditis

Presentación muy infrecuente, habitualmente genera disfunción valvular e insuficiencia cardiaca, sin embargo muchos casos se resuelven mediante antibioticoterapia, no siendo necesaria la cirugía.(4)

- Peritonitis

La mayoría de los casos de peritonitis bacteriana se han descrito en España y en pacientes con cirrosis avanzada, en los que la evolución suele ser rápida y fatal. Se ha propuesto que factores dietéticos como el consumo de vegetales crudos y factores climáticos, puedan explicar el predominio en España. También se han comunicado peritonitis en pacientes en diálisis peritoneal.(4)

- Infección localizada

Se han visto casos raros de infecciones focales en las cuales se ha aislado el microorganismo. El mecanismo patogénico incluye la inoculación directa y puede ocasionar conjuntivitis, infección de piel y linfadenitis. Por otra parte, la bacteriemia puede causar infecciones localizadas en distintos órganos.(3)

Métodos de identificación del agente

Listeria crece bien en medios comúnmente utilizados en los laboratorios clínicos como el agar sangre ovina. *Listeria monocytogenes* produce beta-hemólisis o hemólisis completa en agar sangre. La identificación a nivel de especie se realiza mediante determinadas pruebas que comprenden la reacción a la tinción de Gram, la producción de enzima catalasa, la prueba de CAMP y los ensayos de: movilidad, de hemólisis en agar sangre, y la utilización de carbohidratos.(8)

Una vez que Lm fue aislada e identificada se procede a su tipificación utilizando distintos métodos. Por un lado tenemos la tipificación fenotípica donde se encuentra la serotipificación y la fagotipificación entre otros. (8)

Por otro lado están los métodos de tipificación molecular más utilizados, donde encontramos: serotipado, fagotipado, electroforesis de enzimas multilocus, ribotipado y electroforesis de campo pulsado (PFGE), entre otros. (8) . La electroforersis de campo pulsado (PFGE) es el método estándar de subtipificación para detectar brotes de listeriosis porque ha demostrado ser el método con mayor poder discriminatorio. Es el método empleado por el Center for Disease Control

and Prevention (CDC) de Estados Unidos en la red de vigilancia molecular de las infecciones alimentarias.(9)

A continuación se realizará una reseña de dichos métodos:

- Serotipado: Las cepas de Lm pueden asignarse a 13 serotipos diferentes, basándose en su combinación de antígenos somático (O) y flagelar (H). Comparado con otros métodos de tipificación, el serotipado presenta un poder de discriminación bajo, pero puede proporcionar una información valiosa para facilitar el descarte de aislamientos que no forman parte de un brote.(8)
- Fagotipado: La tipificación por bacteriófagos es una técnica con un buen poder de discriminación y que puede utilizarse para tipificar un gran número de aislados. Sin embargo, las colecciones de fagos disponibles en la actualidad no pueden tipificar una proporción alta de cepas. (8)
- Electroforesis de enzimas multilocus: Se basa en las diferencias en la secuencia de nucleótidos que provocan distintas movilidades electroforéticas de ciertas enzimas metabólicas seleccionadas en geles de almidón y puede emplearse en la tipificación de cepas bacterianas relacionadas. (8)
- Ribotipado: Se utilizan sondas de ADN correspondientes a los RNA ribosómicos, y se detectan únicamente los fragmentos de restricción concretos asociados con los loci cromosómicos de los ARNr. Se utiliza ampliamente en la tipificación de Lm, principalmente con la endonucleasa de restricción EcoRI. (8)
- Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE): Se emplean endonucleasas de restricción con baja frecuencia de corte para digerir ADN cromosómico íntegro, tales como las enzimas ApaI, SmaI, NotI o AscI, se obtienen fragmentos muy grandes. A causa de su tamaño, estos fragmentos grandes no se pueden separar cuando se someten a una electroforesis convencional en gel de agarosa. Sin embargo, aplicando cambios periódicos de la orientación del campo eléctrico a lo largo del gel, a

través de pulsos, los fragmentos grandes pueden “avanzar lentamente” en la matriz de agarosa y separarse de acuerdo a sus diferencias de tamaño. Ésta técnica ha revolucionado la separación precisa de los fragmentos de ADN de tamaño superior a 40 kilobases. La PFGE se aplica en la tipificación de Lm y se ha visto que es un método muy reproducible y discriminatorio. Las principales desventajas de la PFGE son el tiempo de duración del procedimiento (2–3 días) y el gasto de grandes cantidades de enzimas de restricción, al igual que el equipamiento especializado necesario para llevarlo a cabo y la complejidad técnica. (8)

Dificultades en el estudio de un brote

Dado que la listeriosis puede presentarse comúnmente en forma de gastroenteritis febril o en forma de listeriosis cutánea, las cuales constituyen presentaciones autolimitadas que se presentan con síntomas no específicos, están posiblemente subdiagnosticadas. Debido a que la enfermedad por lo general se resuelve espontáneamente en pacientes de bajo riesgo, estos casos no son estudiados.(10) Las investigaciones epidemiológicas de los brotes son especialmente complejas por dos razones: En primer lugar el largo tiempo de incubación hace que sea muy difícil la obtención de las historias alimenticias precisas de los pacientes, en particular en los de edad avanzada. Para evitar este problema los epidemiólogos intentan obtener entrevistas con los pacientes ni bien son notificados. En segundo lugar, las heterogéneas y numerosas manifestaciones clínicas.(10)

La subtipificación molecular juega un rol fundamental en la detección temprana de brotes de listeriosis y en su investigación posterior. Es particularmente útil para el reconocimiento de los brotes la caracterización de los aislamientos utilizando protocolos estandarizados, y poseer bases de datos nacionales e internacionales donde se puedan ingresar los datos de los distintos subtipos. Esto se hace actualmente en distintos países mediante pulsenet.(10)

PulseNet se originó en EE.UU. y constituye una red inicialmente nacional integrada por 87 laboratorios, habiendo por lo menos uno en cada estado. Luego

del éxito en EE.UU. surge PulseNet International que ahora se extiende por más de 80 países.(11)

PulseNet conecta casos de enfermedades transmitidas por alimentos para detectar y definir brotes. Para eso procesan los aislamientos de bacterias mediante un protocolo estandarizado de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y son ingresados a una base de datos. Esta es acumulativa y cuenta hoy con casi medio millón de aislamientos de bacterias provenientes de alimentos, el medio ambiente y humanos infectados.(11)

La base de datos identifica los brotes conectando las "huellas de ADN" de las bacterias. Una vez que PulseNet hace estas conexiones y se identifica un brote, los equipos del CDC y los departamentos de salud estatales y locales se encargan de la investigación epidemiológica.(11)

Los epidemiólogos entrevistan a los pacientes, y recaban datos sobre hechos simples de su enfermedad, y sobre lo que han comido, dónde han estado, y otras cuestiones que podrían proporcionar una pista acerca de la causa de su enfermedad.(11)

Mediante la comparación de las respuestas de la entrevista entre los distintos casos, la conexión de los patrones de PFGE en pacientes, con los patrones que se encuentran en los programas de vigilancia de los alimentos, y la realización de estudios epidemiológicos se puede identificar un tipo particular de alimentos o una actividad causal. Cuando esto ocurre, las agencias colaboran para controlar la propagación del brote y además para desarrollar estrategias para prevenir nuevos brotes. (11)

PulseNet ha aumentado la capacidad para identificar e investigar brotes debido a:

- La identificación de los casos que forman parte de un brote. Se distingue a estos casos de otros que no son parte de un brote, pero se originan al mismo tiempo.
- La detección de los brotes a través de la vigilancia. Vincula casos que pueden parecer desconectados porque están geográficamente alejados, o porque el microorganismo es común y un pequeño aumento en la incidencia no se hace evidente.(11)

Objetivos

Objetivo general

Analizar las características de los brotes causados por *Listeria monocytogenes*, publicados en los últimos 10 años.

Objetivos específicos

1. Identificar alimentos involucrados en los brotes por *Listeria monocytogenes*
2. Determinar el o los serotipos más frecuentemente implicado en los brotes por *Listeria monocytogenes*.
3. Determinar las manifestaciones clínicas más frecuentes
4. Identificar la metodología utilizada por otros países para reconocer y estudiar un brote por *Listeria monocytogenes*

Metodología

En una primera instancia hicimos una lectura en fuentes de información primaria para lograr una aproximación al tema, junto con la orientación de un experto en el tema. Luego realizamos una búsqueda en Pubmed con los términos clave (“outbreak”, “listeria” y “southamerica”) y el operador booleano AND; en esta búsqueda solo se recuperaron 9 artículos. Luego de la lectura crítica y el análisis de la información recabada, se concluyó que se debía ampliar la búsqueda más allá de sudamérica y que ésta se iba a centrar exclusivamente en la descripción de brotes en humanos.

Se realizó una búsqueda bibliográfica el día 10.06.2014 en dos base de datos distintas: Pubmed y Scielo. Se utilizó el operador booleano AND y los términos clave “listeria” y “outbreak” y un filtro de las publicaciones de los últimos 10 años. Los criterios de inclusión para seleccionar un artículo fueron que efectivamente describiera un brote de listeriosis humana (por el título y el *abstract*) y que estuviera disponible en versión completa en Pubmed, Scielo o en portal Timbó. La búsqueda fue prospectiva ya que luego de realizada, recibimos alertas bibliográficas de nuevos artículos publicados sobre el tema, de estos ninguno cumplía con los criterios de inclusión, hasta el 01.08.2014.

Una vez que tuvimos la lista definitiva de artículos a revisar, realizamos una tabla para uniformizar la información que se iba a obtener de cada artículo. La misma incluyó los siguientes datos: integrante del grupo responsable del análisis del trabajo, título y primer autor del artículo, revista en que se publicó, año del brote, país donde sucedió el brote, presencia o ausencia de sistema de notificación de listeriosis en el país, forma en que detectaron el brote, forma en que se estudió el brote, alimento involucrado, cantidad de personas afectadas, características de la población afectada (embarazadas, neonatos, adultos mayores, jóvenes e inmunodepresión), manifestaciones clínicas en las embarazadas (fiebre, escalofríos, síntomas gastrointestinales, rigidez de nuca y fotofobia), complicaciones en las embarazadas (parto pretérmino, aborto, óbito, y cantidad de muertos).

Resultados

La búsqueda arrojó un total de 294 artículos de los cuales se excluyeron 269 luego de la lectura del abstract y el título. Luego se excluyeron 3 brotes duplicados de los 23 seleccionados (fig 1) Se incluyeron por tanto 20 brotes que sucedieron del 2000 al 2013 en 9 países distintos, de los cuales sólo un brote descrito ocurrió en un país latinoamericano (Brasil).

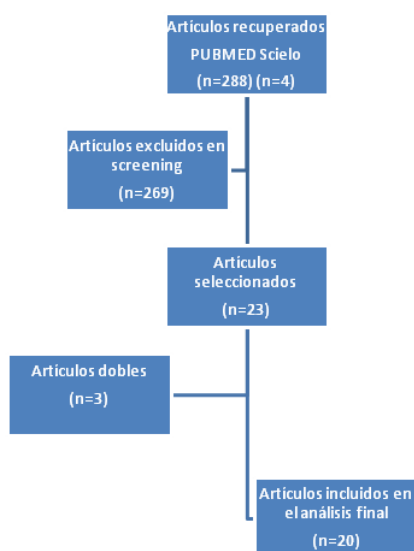


Fig.1. Resultados de la búsqueda bibliográfica.

La información de los brotes se describe en la tabla 1.

Tomando en cuenta los individuos afectados en cada brote se llegó a un número de 737 personas que adquirieron listeriosis. De estas 737 personas afectadas 142 fallecieron, es decir que la tasa de letalidad fue del 19,3%.

Sólo 11 brotes describían las características de las personas afectadas (n= 273): 55% eran adultos mayores (edad > 65 años), lo siguieron en frecuencia los jóvenes (< 65 años, no embarazadas) con un 21%, las embarazadas con 16% y por último los neonatos con 8%. De la población de estos brotes, además el 15% eran inmunodeprimidos.

Cuatro brotes especifican las manifestaciones clínicas de las embarazadas, incluyendo un total de 19 pacientes. De estas el 79% se presentaron con fiebre, 53% con escalofríos, 47% con síntomas de la esfera gastrointestinal en la semana previa, 31% con rigidez de nuca y 16% con fotofobia. Con respecto a las complicaciones en el embarazo 10 brotes las detallaban con un total de 65 embarazadas. Casi la mitad de las embarazadas presentó complicaciones: 18% sufrió un aborto, 11% un óbito y 17% parto pretérmino.

En un brote no se pudo identificar el alimento implicado. En los 19 restantes los alimentos involucrados fueron quesos (40%), embutidos, sándwiches, frutas y verduras crudas, carnes.

Con respecto al serotipo, contamos con datos de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados de 16 brotes; el serotipo más frecuente fue 1/2a (50% de los casos), luego le sigue en frecuencia el serotipo 4b (25% de los casos). El 25% restante corresponde a más de un serotipo aislado en un mismo brote: un brote con la combinación de los serotipos 1/2a y 1/2b, otro con los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b y el último 1/2b y 3b.

Por último 19 de 20 artículos describieron la forma en que se reconoció el brote: en el 42% la identificación se pudo hacer porque había un sistema de notificación y se detectó un aumento de la incidencia de los casos de listeriosis por encima de lo esperado, 31% de los brotes se identificaron a través de un sistema de subtipificación molecular donde el hallazgo de patrones de PGFE indistinguibles

en un periodo de tiempo ponían en marcha la investigación de un posible brote. Por último el 26% de los brotes se identificaron porque los casos se dieron agrupados temporalmente y en un mismo lugar físico (hospital) y por tanto se vio un aumento de la incidencia en ese lugar en particular.

Con respecto al estudio de los brotes, se dispone de de información en 17 de ellos de los cuales 13 artículos (76%) describen el estudio mediante encuestas epidemiológicas a los afectados y estudios ambientales; en los 4 restantes (24%) solo se describe el estudio caso-control.

Tabla 1. Descripción de los brotes

Referencia/ Año brote	País	Sistema de notificación	Serotipo aislado	Alimento	Personas afectadas	Fallecidos
(12)2013	USA	Si	-	Queso blando	6	1
(13)2012	España	No	1/2a	Queso	2	0
(14)2011	Suiza	Si	1/2a	Jamon cocido	7	0
(15)2011	USA	Si	1/2a, 1/2b	Melon	147	33
(16)2010	USA	Si	1/2a	Apio	10	5
(17)2010	USA	Si	1/2a	Queso de cabeza de cerdo	8	2
(18)2009- 2010	Austria, Alemania, República Checa	Austria obligatorio, Alemania opcional	1/2a	Queso Quargel	34	8
(19)2009	Dinamarca	Si	43/71	Rebanadas de carne	8	2
(20)2007	República Checa	Si	1/2b	Queso maduro	75	12
(21)2007	USA	Si	-	Leche pasteurizada	5	3
(22)2006- 2007	Brasil	No	1/2b y 3b	No identificado	6	5
(23)2006- 2007	Alemania	Si (opcional)	4b, 1/2a, 1/2b	Queso	189	26
(24)2006- 2007	Alemania	Si (opcional)	4b	Salchicha escaldada	16	5
(25)2006	UK	No	1/2a	Sandwich	5	0
(26)2006	Suiza	Si	1/2a	Queso tomme	12	3
(27)2006	USA	Si	4b	Muslo de pollo	54	8
(28)2005	USA	Si	4b	Pancho, embutido	108	14
(29)2003	UK	No	1/2a	Sándwich	2	0
(30)2000	USA	Si	1/2a	Carne de pavo	30	0
(31)2000	USA	Si	4b	Queso fresco	13	0

Discusión

Del análisis de datos en esta revisión surge una letalidad del 19,3%, que coincide con el 20-30% citado en la bibliografía consultada.

Los adultos mayores (edad > 65 años) fueron los más afectados. Lo siguieron en frecuencia los jóvenes (< 65 años, no embarazadas) que desconocemos su estado inmunitario ya que no todos los artículos lo mencionaban. Las embarazadas implicaron el 16% de la población afectada y por último los neonatos el 8%.

Si bien en esta revisión los brotes que especifican las manifestaciones clínicas en embarazadas son solamente 4, se vio que las manifestaciones por orden de frecuencia corresponden a fiebre, escalofríos, y síntomas de la esfera gastrointestinal. Del análisis también surge que un 31% de las embarazadas se presentó con rigidez de nuca, signo característico de meningitis, manifestación no tan frecuente.

Con respecto a las complicaciones en el embarazo asociadas a listeriosis, del análisis de datos surge que casi la mitad de las embarazadas presentó complicaciones, destacándose por orden de frecuencia el aborto, el parto pretérmino, y el óbito fetal.

Respecto a los alimentos más frecuentemente involucrados en su mayoría se observaron brotes relacionados a quesos blandos, embutidos, carne y algunos vegetales como melón y apio.

Los resultados anteriores coinciden con lo reportado en la literatura (2,3). Sin embargo con respecto al análisis de los serotipos de *Listeria monocytogenes* involucrados en esta revisión el más frecuente fue 1/2a, a diferencia de lo informado en la literatura consultada (32).

En relación a cómo se identificaron los brotes se pudo observar que en la mayoría de los casos se dio gracias a un sistema de notificación nacional donde se pudo detectar un aumento de la incidencia.

Por otro lado, otro porcentaje de brotes fue identificado gracias a un sistema de subtipificación donde se pueden encontrar patrones de PFGE indistinguibles utilizando la base de datos de la red PulseNet desencadenando la investigación de un posible brote.

Finalmente, otra forma observada de identificar un brote fue debido a un aumento en la incidencia en lugar en particular concretamente 3 hospitales. Esta es la única opción que puede ser utilizada en nuestro país debido a la falta de un sistema de notificación lo cual plantea grandes dificultades al momento de identificar casos a distancia que podrían conformar un posible brote.

Del análisis de las publicaciones seleccionadas surgen dos formas de estudiar los brotes: la encuesta epidemiológica y el estudio caso-control que toma como casos a los individuos enfermos que pertenecen a un brote de listeriosis y como control a casos esporádicos con una relación temporal.

La falta de un sistema de registro de casos de listeriosis es una posible causa de que no se hayan reportado brotes por Lm en Uruguay. Entendemos que para detectar un brote es necesario un sistema de notificación de casos y laboratorios donde realizar el aislamiento de la bacteria y la subtipificación molecular.

Conclusiones

Como estudiantes avanzados de medicina la realización de este trabajo nos aportó conocimiento útil para nuestra formación académica. Previo a la realización de la investigación desconocíamos la existencia de la enfermedad listeriosis y sus formas de presentación, si bien como ya hemos mencionado dicha entidad tiene una alta letalidad. Destacamos la carencia en nuestra formación en relación a esta y otras enfermedades de transmisión alimentaria. Este tipo de enfermedades son por definición de notificación obligatoria en nuestro país, sin embargo, este hecho está escasamente difundido entre el personal de salud.

De esta forma concluimos que es fundamental para la detección y estudio de brotes de listeriosis en nuestro país, una red articulada formada por: médicos con alta sospecha clínica y comprometidos con la notificación obligatoria y un Ministerio de Salud Pública capaz de detectar un aumento en la incidencia de listeriosis en un periodo de tiempo determinado, investigar los casos y reconocer el alimento implicado, para tomar las medidas necesarias.

Referencias

1. Valero FP. Estudio de la incidencia de la listeriosis en España. Universidad autonoma de Barcelona, Facultad de Medicina
2. Macedo,M, VolaM Principales grupos de bacilos gram positivos aerobios En: Algorta G, Amorin B. Temas de bacteriología y virología. 3° ed. Montevideo, Oficina del libro FEFMUR; 2008. p 398-412
3. Bennet L. *Listeria monocytogenes*. En: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7ª ed. Barcelona, Elsevier 2010. p. 2714-21
4. Sánchez Artola, B S de MIHILME, Palencia Herrejón, E S de MIHILME. Actualización: Infecciones por *Listeria*. Medicine (Baltimore). 2010;10(50):3368–72.
5. Rossi L, Paiva A, Tornese M, Chianelli S, Troncoso A. Brotes de infección por *Listeria monocytogenes*: Una revisión de las vías que llevan a su aparición. Rev Chil infectología. 2008;25(5):329–36.
6. Goulet V, King LA, Vaillant V, de Valk H. What is the incubation period for listeriosis? BMC Infect Dis. 2013;13:11
7. <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM210710.pdf>
8. OMSA (Organización mundial de sanidad Animal). Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. 5ª ed lugar editor. 2004
9. Graves LM, Swaminathan B. PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. Int J Food Microbiol. 2001;65(1-2):55–62.
10. Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. Microbes and Infection. 2007;9(10):1236–43.
11. <http://www.cdc.gov/pulsenet/>
12. Choi MJ, Jackson KA, Medus C, Beal J, Rigdon CE, Cloyd TC, et al. Notes from the field: multistate outbreak of listeriosis linked to soft-ripened cheese-- United States, 2013. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2014;63(13):294–5.

13. De Castro V, Escudero J, Rodriguez J, Muniozguren N, Uribarri J, Saez D, et al. Listeriosis outbreak caused by Latin-style fresh cheese, Bizkaia, Spain, August 2012. *Euro Surveill.* 2012;17(42).
14. Hächler H, Marti G, Giannini P, Lehner A, Jost M, Beck J, et al. Outbreak of listeriosis due to imported cooked ham, Switzerland 2011. *Euro Surveill.* 2013 ;18(18):20469
15. McCollum JT, Cronquist AB, Silk BJ, Jackson KA, O'Connor KA, Cosgrove S, et al. Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. *N Engl J Med.* 2013;369(10):944–53.
16. Gaul LK, Farag NH, Shim T, Kingsley MA, Silk BJ, Hyytia-Trees E. Hospital-acquired listeriosis outbreak caused by contaminated diced celery--Texas, 2010. *Clin Infect Dis.* 2013;56(1):20–6.
17. Outbreak of invasive listeriosis associated with the consumption of hog head cheese--Louisiana, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2011;60(13):401–5.
18. Fretz R, Pichler J, Sagel U, Much P, Ruppitsch W, Pietzka AT, et al. Update: Multinational listeriosis outbreak due to “Quargel”, a sour milk curd cheese, caused by two different *L. monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009-2010. *Euro Surveill.* 2010;15(16)
19. Smith B, Larsson JT, Lisby M, Müller L, Madsen SB, Engberg J, et al. Outbreak of listeriosis caused by infected beef meat from a meals-on-wheels delivery in Denmark 2009. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(1):50–2.
20. Vit M, Olejnik R, Dlhý J, Karpísková R, Cástková J, Príkazský V, et al. Outbreak of listeriosis in the Czech Republic, late 2006--preliminary report. *Euro surveillance*: bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. 2007. p. E070208.1.
21. Outbreak of *Listeria monocytogenes* infections associated with pasteurized milk from a local dairy--Massachusetts, 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2008 Oct 10 [cited 2014 Sep 8];57(40):1097–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18846031>
22. Martins IS, Faria FC da C, Miguel MAL, Dias MP de SC, Cardoso FLL, Magalhães AC de G, et al. A cluster of *Listeria monocytogenes* infections in hospitalized adults. *Am J Infect Control.* 2010;38(9):31–6.
23. Koch J, Dworak R, Prager R, Becker B, Brockmann S, Wicke A, et al. Large listeriosis outbreak linked to cheese made from pasteurized milk, Germany, 2006-2007. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7(12):1581–4.

24. Winter CH, Brockmann SO, Sonnentag SR, Schaupp T, Prager R, Hof H, et al. Prolonged hospital and community-based listeriosis outbreak caused by ready-to-eat scalded sausages. *J Hosp Infect.* Elsevier Ltd; 2009;73(2):121–8.
25. Dawson SJ, Evans MRW, Willby D, Bardwell J, Chamberlain N, Lewis D a. Listeria outbreak associated with sandwich consumption from a hospital retail shop, United Kingdom. [Internet]. *Euro surveillance*: bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. 2006. p. 89–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16801694>
26. Bille J, Blanc DS, Schmid H, Boubaker K, Baumgartner A, Siegrist HH, et al. Outbreak of human listeriosis associated with tomme cheese in northwest Switzerland, 2005. *Euro Surveill* [Internet]. 2006 Jan [cited 2014 Sep 8];11(6):91–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16801693>
27. Gottlieb SL, Newbern EC, Griffin PM, Graves LM, Hoekstra RM, Baker NL, et al. Multistate outbreak of Listeriosis linked to turkey deli meat and subsequent changes in US regulatory policy. *Clin Infect Dis.* 2006 Jan 1;42(1):29–36.
28. Mead PS, Dunne EF, Graves L, Wiedmann M, Patrick M, Hunter S, et al. Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat. *Epidemiol Infect.* 2006;134(4):744–51.
29. Shetty a, McLauchlin J, Grant K, O'Brien D, Howard T, Davies EM. Outbreak of *Listeria monocytogenes* in an oncology unit associated with sandwiches consumed in hospital. *J Hosp Infect.* Elsevier Ltd; 2009;72(4):332–6.
30. Olsen SJ, Patrick M, Hunter SB, Reddy V, Kornstein L, MacKenzie WR, et al. Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infection linked to delicatessen turkey meat. *Clin Infect Dis.* 2005;40(7):962–7.
31. MacDonald PDM, Whitwam RE, Boggs JD, MacCormack JN, Anderson KL, Reardon JW, et al. Outbreak of listeriosis among Mexican immigrants as a result of consumption of illicitly produced Mexican-style cheese. *Clin Infect Dis.* 2005;40(5):677–82.
32. Cartwright EJ, Jackson KA, Johnson SD, Graves LM, Silk BJ, Mahon BE. Listeriosis Outbreaks and Associated Food Vehicles, United States, 1998–2008. *Emerg Infect Dis* 2013;19(1):1-9